AUS DEM HYGIENISCHEN INSTITUT DER FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT
BERLIN. DIREKTOR: PROF. DR. MED. H. ZEISS

DIE UNSPEZIFITÄT DER WIDMARK'SCHEN BLUTALKOHOLBESTIMMUNG IN IHRER ANWENDUNG AUF DEN NACHWEIS UND DAS VERHALTEN VON ESTERN IM BLUT

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DES

MEDIZINISCHEN DOKTORGRADES

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN

VORGELEGT VON

DR. PHIL. **HELMUT RICHARD KANITZ**
NAHRUNGSMITTELCHEMIKER UND ARZT
AUS BERLIN

TAG DER PROMOTION: 18. NOVEMBER 1939

1939

DRUCK DER SPAMER A.-G. IN LEIPZIG

M 310

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Berlin
Dekan: Prof. Dr. Kreuz
Referent: Prof. Dr. Zeiss

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel", Band 78, Heft 6
Verlag von Julius Springer in Berlin W 9
Printed in Germany

Bei meinen früheren Untersuchungen (19) über das Verhalten des Alkohols im Blut interessierte mich die Frage, wie und in welcher Form der Umsatz exogenen Alkohols im Körper mit dem Zuckerstoffwechsel verflochten ist. Diese Versuche zeigten sehr deutlich, daß bei synchroner Alkohol-Zucker-Insulingabe der aufsteigende Schenkel der alimentär-alkoholämischen Kurve durch das Insulin verlängert, vor allem aber verflacht wird. Diese Erscheinung kann man wohl als Beweis für den Vorgang ansehen, daß die Gestaltung des aufsteigenden Schenkels die Resultate von Alkoholresorption und Alkoholzerstörung sind. Überdies ging aus meinen Versuchen hervor, daß bei der Insulinwirkung hohe Blutalkoholwerte in manchen Fällen abhängig vom Blutzuckergehalt vorhanden sein können, ohne eine parallellaufende entsprechende Bewußtseinstrübung. Bickel (3) bezeichnet die vorliegende Erscheinung als Insulinblockade der Ganglienzellen. Nun sind diese Alkohol-Zucker-Insulinversuche eine starke Stütze für die Auffassung geworden, daß man das psychische Verhalten, natürlich in bestimmten Grenzen, aus der Größe des Blutalkoholbefundes allein ohne Berücksichtigung aller Verhältnisse nicht beurteilen kann. Vor allem aber deuten sie auf den Einbau an Wirkung und Schicksal auch des exogenen Alkohols in dem Zuckerstoffwechsel hin. Bei der Nachprüfung meiner Insulinbefunde am Menschen kam Junge (17) zu dem Ergebnis, daß das Insulin in der Lage sei, für kurze Zeit eine Ernüchterung herbeizuführen. Die motorischen Ausfallserscheinungen blieben aber in solchem Maße bestehen, so daß eine praktische Nutzanwendung der Insulinbehandlung nicht in Frage kommt.

Die für die laufende Beobachtung des Blutalkoholspiegels bei experimentellen Untersuchungen an Mensch und Tier geeigneteste Methode ist die von Widmark (37), da in kurzen Zeitabständen wenig Blut entnommen werden kann und das Versuchsindividuum nicht geschädigt wird. Das von Widmark angegebene und ausgearbeitete Bestimmungsverfahren ist eine Oxydationsanalyse. Während in der forensischen Praxis das Blut eingewogen wird, hat es sich bei den experimentellen Untersuchungen als zweckmäßiger erwiesen, das zu untersuchende Blut abzumessen. Daher sind alle Angaben in meinen Versuchen in „g Alkohol" in einem Liter Blut (g/l) ausgedrückt.

Die Widmark-Methode ist nun, sofern sie auf reine Lösungen von Wasser und Alkohol angewandt wird, auch spezifisch für Alkohol. Im Blut sind jedoch Verhältnisse

gegeben, die durchaus nicht mit denjenigen bei reinen Alkohollösungen zu vergleichen sind, denn mit Wasserdampf können außer Alkohol auch zahlreiche andere Substanzen flüchtig werden. Man denke hierbei auch an die sog. azeotropischen Gemische, die bei der Spritgewinnung die Abtrennung anderer Substanzen erschweren, die für sich allein eigentlich kaum flüchtig sind, aber in azeotropischen Gemischen schon bei relativ niedriger Temperatur flüchtig werden. Das, was aus dem Blut mit Wasserdampf übergeht, wird bei der Widmark-Methode oxydiert, also nur in bezug auf den Verbrauch an Oxydationsmitteln quantitativ untersucht. Neben dieser quantitativen Bestimmung ist aber der qualitative Nachweis des Alkohols unerläßlich, da auch andere mit Wasserdampf flüchtige, organische Substanzen Sauerstoff verbrauchen können. Je nach Konstitution dieser Substanzen wird der Sauerstoffverbrauch verschieden hoch sein. Bei der Blutalkoholbestimmung nach Widmark wissen wir also nicht, ob die oxydimetrisch bestimmte Substanz tatsächlich Alkohol ist.

Diese Unspezifität, auf die vor allem von den chemischen Sachverständigen immer wieder eindringlich hingewiesen wurde und wird, hat Friedemann und Klaas (8) veranlaßt, den Alkohol durch doppelte modifizierte Destillation größerer Mengen Untersuchungsmaterials möglichst für sich allein abzutrennen und dann erst die Oxydationsanalyse auszuführen. Da eine solche Abtrennung des Alkohols erheblich größere Mengen Ausgangsmaterial erfordert, verarbeiten Le Breton und seine Mitarbeiter (4) bei ihren Tierversuchen das ganze Tier oder wenigstens größere Anteile desselben. Kratz (24) empfiehlt zur Kontrolluntersuchung das Verfahren nach Liebesny in der Modifikation von Heiduschka-Steulmann heranzuziehen, das bei geringem Zeitaufwand genauere Werte gibt. Andererseits konnten Gisselson und Lindgren (10) die Widmark-Methode gerade wegen ihrer Unspezifität zur Bestimmung des Äthers im Blut ausarbeiten.

Es ist erwiesen, daß man das Analysenergebnis nahezu vollständig auf Alkohol beziehen kann, wenn z. B. im Versuch reiner Alkohol verfüttert wird. Aber schon die Darreichung des Alkohols als Wein, Bier oder Weinbrand kann durch Beimengungen der verschiedensten Aromastoffe und Ester, auch wenn sie an Menge erheblich hinter dem Alkohol zurücktreten, die Deutung der Analysenbefunde erschweren, da vielleicht doch Substanzen mitbestimmt werden, die kein Alkohol sind. Daher ist es, wie auch aus meinen nachfolgenden Befunden hervorgeht und wie auch Förster (7) u. a. betonen, durchaus unzulässig in der forensischen Praxis aus dem Blutalkoholbefund, wie es früher zahlreiche Sachverständige taten, genau auf die genossenen Mengen alkoholischer Getränke umzurechnen und dem Beschuldigten die oft auftretende erhebliche Diskrepanz zwischen dieser Berechnung und seinen Aussagen erschwerend vorzuhalten. Gerade um die Blutalkoholbestimmung in ihrem erzieherischen Wert nicht herabzusetzen, ist dringend zu fordern, daß diese so einfach erscheinende Bestimmung nur von chemisch gut ausgebildeten Sachverständigen und nicht von Hilfspersonen, die weder die chemischen Vorgänge, noch die Tragweite ihrer Untersuchungen beurteilen können, ausgeführt wird. Diese Forderung ist eigentlich eine Selbstverständlichkeit, da bei allen forensisch-chemischen Untersuchungen, wie z. B. bei der Alkaloidbestimmung, nur der Fachmann in der Lage ist den einwandfreien Befund zu erheben und richtig zu deuten. Im übrigen kann man Hellwigs (14) Forderung nur beipflichten, die klinische Diagnose durch die Blutalkoholbestimmung in keiner Weise zu ersetzen.

Die besondere Veranlassung, mich gerade mit diesen Fragen zu beschäftigen, waren die Citronensäureversuche von Bickel und Richter (3 u. 28), die am Menschen zeigten, daß durch Beigabe von Citronensäure zum Alkoholtrank die alimentär-alkoholämische Kurve abgeflacht

stark verkürzt und scheinbar auch der Rauschzustand der Versuchsperson gemindert wurde. Widmark hatte ähnliches bei einigen Versuchen an Hunden gesehen. Ich selbst habe diese Versuche an Pflanzenfressern (Kaninchen) wiederholt und bei größeren Alkoholgaben den Einfluß der Citronensäure, ihres Natriumsalzes und des reinen Citronensaftes untersucht. Auch am Kaninchen fand sich eine Beeinflussung der Blutalkoholkurve im Sinne einer Senkung, wie aus dem nebenstehenden Schaubild hervorgeht. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß in südlichen Ländern Citrone als Gegenrauschmittel benutzt wird, wie mir von verschiedener Seite mitgeteilt wurde. Da die Citronensäure beim Kohlehydratabbau entsteht und enzymatisch in Glutaminsäure überführt werden kann (20), stellt sie ein Bindeglied zwischen den Kohlehydraten und den Eiweißstoffen dar.

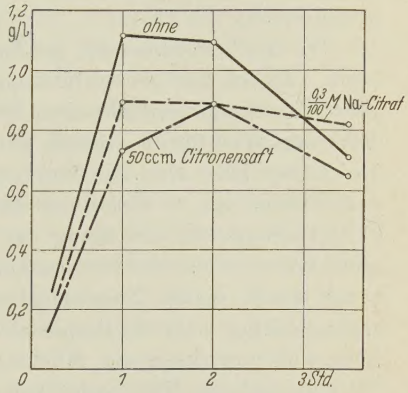

Abb. 1.

Widmark (39) hatte bei seinen Untersuchungen über den Einfluß der Nahrung auf den Verlauf der alimentär-alkoholämischen Kurven an Hunden, also an Fleischfressern, neben anderen Stoffen eine Anzahl Aminosäuren geprüft. Eine senkende Wirkung hatten: Glykokoll, Alanin, Leucin, Tyrosin und Asparagin; Cystin aber hatte nur sehr geringe Wirkung.

Ausgehend von dem Gedanken, daß beim Kaninchen, als reinem Pflanzenfresser, vielleicht die Aminosäuren eine andere Wirkung haben könnten, habe ich diese Versuche an diesem Tier nachgeprüft. Unter anderem wurde ein Aminosäurengemisch, Tyrosin und Cystin verfüttert. Die Bestrahlung mit Gammastrahlen veränderte die Wirkung des Cystins in keiner Weise. Auch am Kaninchen fand sich die senkende Wirkung der Aminosäuren auf den Blutalkohol, die ungefähr der von Widmark an Hunden gefundenen gleich war.

In einer anderen Versuchsreihe, über die folgendes Schaubild Auskunft gibt, verglich ich den Einfluß verschiedener organischer Säuren auf die alimentär-alkoholämische Kurve quantitativ, wobei der Zusammenhang zwischen Konstitution dieser Säuren und ihrer blutalkoholsenkenden Wirkung von besonderem Interesse war. Aus diesem Grunde mußten diese Säuren einmal gleichzeitig mit dem Alkohol verabreicht und zum anderen Mal mußte, um Vergleichswerte zu erhalten, eine solche Versuchsreihe an ein und demselben Kaninchen durchgeführt werden. Den Wirkungsgrad der Senkung des Blutalkohols durch die Säuren in Prozent bestimmte ich nach dem von Widmark angegebenen Verfahren, nämlich durch die Projektion des absteigenden Astes der alimentär-alkoholämischen Kurve auf die Ordinate (Abb. 2).

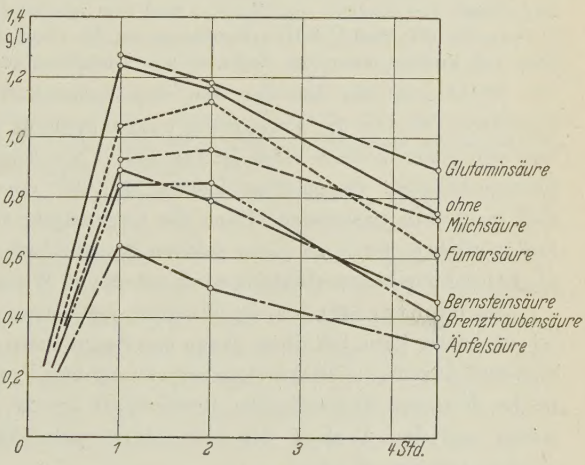

Abb. 2.

Aus diesem Schaubild geht hervor: Glutaminsäure hat keinen blutalkoholsenkenden Einfluß. Milchsäure und Brenztraubensäure, das Oxydationsprodukt der Milchsäure,

haben bemerkenswerter Weise genau die gleiche Wirkung von 24%, Bernsteinsäure wirkt ebenso stark, nämlich 26%. Dagegen hat die, der Bernsteinsäure entsprechende ungesättigte Säure, die Fumarsäure, fast keine senkende Wirkung, vermutlich, weil die Fumarsäure durch ihre leicht angreifbare Doppelbindung, wie wir aus vielen anderen Beispielen wissen, einer schnellen Zerstörung, vielleicht bereits im Verdauungskanal, anheimfällt.

Die Oxybernsteinsäure, die Äpfelsäure, hatte dagegen die bei weitem stärkste Wirkung, nämlich fast genau die doppelte der Bernsteinsäure. Nimmt man die Bernsteinsäure zum Ausgangspunkt einer Betrachtung der Beziehung zwischen Konstitution und Wirkung, so ist für die erhöhte Wirkung wohl die Oxygruppe verantwortlich zu machen. Betrachtet man aber die Oxybernsteinsäure von der Milchsäure, der Äthylalkoholcarbonsäure, aus, so wird durch Ersatz eines Wasserstoffes der Methylgruppe durch eine COOH-Gruppe die Erhöhung der blutalkoholsenkenden Wirkung bedingt sein. Vergleichsversuche mit der Propionsäure gegenüber der entsprechenden Oxysäure, der Milchsäure, die in diesem Zusammenhange besonders interessieren, stehen noch aus. Aber wahrscheinlich wird die Propionsäure, genau so wie die Buttersäure, die ich untersucht habe, wohl unwirksam sein. Milchsäure und Brenztraubensäure, die eine deutliche senkende Wirkung auf den Blutalkohol haben, können vielleicht auch für die Beschleunigung des Alkoholverschwindens im menschlichen Blut bei körperlicher Arbeit mit verantwortlich gemacht werden, da Muskelarbeit einen vermehrten Milchsäureumsatz zur Folge hat.

Leloir und Muñoz (25) fanden, wenn sie in aerober Versuchsanordnung zu Leberbrei Citronensäure, Milchsäure, Brenztraubensäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Malonsäure, Oxalessigsäure und Alanin zusetzten, daß die Oxydation des Alkohols beschleunigt wurde. Oxybuttersäure, Ascorbinsäure, Glycin, Ornithin, Glucose und Insulin hatten keine Wirkung. Die Ergebnisse von Leloir und Muñoz und von mir sind ein Beitrag zu der Auffassung Szent-Györgyis (35), daß C 4-Dicarbonsäuren an der Oxydation im tierischen Organismus teilhaben und daß andere reversible Systeme wie Brenztrauben-, Milchsäure ähnlich wirken.

Widmark hat bei der von ihm beobachteten alkoholsenkenden Wirkung verschiedener Säuren die Vermutung ausgesprochen, daß hier vielleicht eine Esterbildung vor sich gehen könnte. Den Beweis hat er mit seiner Versuchsanordnung aber nicht erbringen können. Gegen diese Theorie läßt sich vom Standpunkt der Chemie einwenden, daß es in dem wässerigen Milieu des Organismus besonders bei den Verdünnungen, die hier vorliegen, nicht zu einer solchen Esterbildung komme. Durch Enzymtätigkeit ist aber andererseits Esterbildung auch neben viel Wasser möglich, wie z. B. in den Früchten.

Da Richter (28) für die Wirkung der Citronensäure ebenfalls die Esterbildung erwogen hatte, habe ich diese Frage einer genaueren Prüfung im Experiment unterzogen, angeregt durch eine Diskussionsbemerkung von Prof. Dr. Heubner bei meinem Vortrag in der Berliner Medizinischen Gesellschaft am 29. I. 1936: „Über die Wirkung des Insulins auf den Verlauf der alimentär-hyperglykämischen und der alimentär-hyperalkoholämischen Kurve".

Vergleicht man die Alkohole mit den Metallhydroxyden, so darf man die Bildung den Salzen entsprechender Verbindungen erwarten. Die Säureester sind sehr reaktionsfähige Körper, da sie leicht die Estergruppe gegen eine andere Gruppe austauschen. So geben sie beispielsweise mit Ammoniak die Säureamide. Beim Erhitzen mit anderen Alkoholen oder anderen Estern erleiden die Ester eine doppelte Umsetzung. Diese „Umesterung" wird durch die Anwesenheit kleiner Säure- oder Alkalimengen katalytisch beschleunigt.

Daher habe ich bei allen Alkoholbestimmungen nach der Widmark-Methode in parallelen Versuchsreihen eine gleichzeitige Esterspaltung mit Säure und Alkali versucht. Zu 0,1 ccm Blut wurde entweder 1 Tropfen (= 0,07 ccm) 4 n-Natronlauge oder 4 n-Schwefelsäure hinzugegeben. Alle diese Alkoholkurven verliefen parallel auf verschiedener Höhe, die vom Nüchternwert bestimmt wurde. Bei der Spaltung des Nüchternblutes mit Säure und Lauge werden ganz erhebliche sog. Alkoholwerte gefunden, ein neuer Beweis, daß die Reaktion des zur Untersuchung gelangenden Blutes bei der forensischen Blutalkoholbestimmung von großer Bedeutung ist.

Da es durch Säure- und Alkalispaltung wegen des parallelen Verlaufes der Kurven, wobei vielleicht Veränderungen in die Fehlergrenze der Analyse fallen, nicht zu unterscheiden war, ob irgendwelche Ester des verfütterten Äthylalkohols auftreten, habe ich die Frage umgekehrt und an Stelle von Alkohol verschiedene Ester verfüttert (durch Schlundsonde). Die Bestimmung der nach Verfütterung von chemisch genau definierten Estern auftretenden flüchtigen, mit der Oxydationsanalyse quantitativ aber nicht qualitativ erfaßbaren Substanzen, ist auch ein Beitrag zur Klärung der Frage, welche Stoffe für das Auftreten eines sog. Blutalkohols nach dem Genuß von Obst usw. gegebenenfalls in Frage kommen können.

Daß nach Obstgenuß doch recht hohe sog. Alkoholwerte beobachtet wurden, zeigt der Hinweis von Schwarz (32), der einen starken Anstieg des Blutalkoholspiegels fand. Daran schließen sich die Versuche von Kohberg (23) an, bei denen nach Gabe von Traubensaft recht erhebliche Blutalkoholkonzentrationen gefunden wurden: nach 180 ccm alkoholfreiem Rotwein bis zu 0,47‰ Alkohol. Schückle (31) fand nach Genuß von 2225 g Apfelsinen und Mandarinen bis zu 0,16‰ Alkohol. Hinsberg und Breutel (15) beobachteten nach Genuß von 2500 g Apfelsinen im Maximum 0,079‰ nach Widmark und nur 0,015‰ nach Friedemann und Klaas. Auch nach ihren Versuchen kann der Anstieg des Blutspiegels nicht auf einer Vermehrung des Alkohols beruhen, sondern nur auf einer Zunahme anderer flüchtiger Substanzen. Im Selbstversuch fand ich nach dem Genuß von 500 g Ananas immerhin eine deutliche Erhöhung des sog. physiologischen Blutalkohols auf 0,38 g/l. Hervorgehoben sei, daß eine Art Rauschzustand mit Kopfschmerzen und Erschwerung des Sprechens auftrat. Dagegen fanden Möller und Widmar (27) nach dem Essen von Apfelsinen, Äpfeln, Birnen, Bananen oder Weintrauben in keinem Falle eine Erhöhung des natürlichen Gehaltes des Blutes an bichromat-reduzierenden, flüchtigen Substanzen, wie sie nach Widmark bestimmt werden.

Ich glaube für die von Schwarz, Kohberg und Schückle, Hinsberg und Breutel und auch von mir beobachtete Erhöhung des sog. physiologischen Blutalkoholspiegels die Aromastoffe verantwortlich machen zu müssen. Zwar sind die Aromaträger der Früchte, die vorwiegend in der Schale ihren Sitz haben, noch nicht genau bekannt. Sicher ist aber, daß sich unter ihnen eine große Zahl von Estern verschiedenster Art finden, die im Verein mit anderen Stoffen das typische Aroma der Früchte ausmachen. Als Träger des Apfelaromas wird Amylvalerianat, des Birnenaromas Äthyl- und Amylacetat, des Ananasaromas Äthyl- und Amylbutyrat angenommen. In ihrer Ausgiebigkeit stehen diese Aromastoffe z. B. den Farbstoffen nicht nach. Die sehr geringe Menge der in den meisten Früchten vorhandenen Aromastoffe hat bis jetzt ihren einwandfreien Nachweis verhindert. Ein großer Teil muß recht beständig sein, sonst wäre es nicht möglich, daß sie sich in der gärenden Obstmaische halten. In diesem Zusammenhang sind die Versuche von Kohberg (23) mit alkoholfreiem Rotwein zu erwähnen. Diese Aromastoffe werden wohl die eigenartig berauschende Wirkung der Weine, vor allem der gewisser Obstweine (durch Vergärung mit wilden Hefen, die viel Ester bilden sollen) hervorrufen, die durch den verhältnismäßig geringen Alkoholgehalt nicht erklärt werden kann. In dieser Annahme werde ich durch den Versuch

bestärkt, als fast alle Ester am Kaninchen in größerer Menge toxisch wirken. In einem Fall konnte der verfütterte Ester auch im Liquor cerebri nachgewiesen werden. Bei kleinen Dosen sahen wir zumeist Schlappheit der Tiere, Lähmungen, Zittern, starke Abkühlung der Ohren, Ausbleiben der Blutungen bei Eröffnung der Ohrvenen u. dgl. mehr. Vermutlich handelt es sich um Wirkungen auf das vegetative Nervensystem.

Die Aromastoffe überstehen auch die Destillation und sind in dem gewonnenen Trinkbranntwein in typischer Weise durch Geruch und Geschmack wahrnehmbar. Die Ester gehören zweifellos zu den, den Genußwert der Edelbranntweine bedingenden Stoffen. Wir sind jedoch vorläufig noch außerstande anzugeben, welche Ester für einen bestimmten Edelbranntwein typisch sind und beschränken uns daher im allgemeinen darauf, die Gesamtmenge der Ester zu ermitteln und als Essigester zu berechnen. So schwankt der Estergehalt der Edelbranntweine als Äthylacetat berechnet in weiten Grenzen. Z. B. können 100 ccm Rum bis zu 2 g Ester enthalten. Die Ester verschiedener Alkohole und Säuren, die in Gärprodukten auftreten, beeinflussen ganz wesentlich den Geruch und Geschmack der Gärungserzeugnisse und bilden einen großen Teil der sog. Bukettstoffe. Es sind insbesondere die Ester der Säuren mit 4—12 C-Atomen, die dem Wein und dem Branntwein das charakteristische Aroma verleihen. Sie sind teils Nebenprodukte bei der Gärung, teils schon im Ausgangsmaterial vorhanden oder entstehen erst später bei der Lagerung und Nachgärung.

Außer den Aromastoffen können vielleicht auch andere Substanzen, wenn sie im Verdauungstraktus aufgespalten werden, einen sog. Alkoholspiegel hervorrufen. Ich denke hierbei z. B. an das Pektin, das im Organismus wahrscheinlich, wie Voit und Friedrich (36) bei Apfeldiät nachwiesen, im Magen-Darmkanal aufgespalten wird, und von dem zum mindesten einer der Bausteine, der Methylalkohol, resorbiert wird, wie an der Erhöhung der Ameisensäurewerte des Harnes nachgewiesen wurde.

Es sind also mannigfache interessante Fragen, die mich veranlaßten, das Verhalten der verschiedensten Ester im Organismus nach oraler Zufuhr an ihrem Spiegel im Blut zu studieren. Zuerst mußte die Möglichkeit des Nachweises und der Bestimmung im Blut mit der Widmarkschen Oxydationsanalyse in Blindversuchen ermittelt werden. Da nun die Spaltung für Ester ein analytisches Charakteristikum ist, mußten Spaltungen mit Säure und Natronlauge die Oxydationsanalyse zu einer brauchbaren Untersuchungsmethode machen, wenn die zur Spaltung gelangenden Ester einheitliche und genau definierte Stoffe waren. Wie nun meine Blindversuche beweisen, die der Übersicht wegen immer bei den einzelnen Tierversuchen aufgeführt werden, ist der sog. Alkoholwert, denn als solchen habe ich den Sauerstoffverbrauch bei dieser Mikromethode berechnet, je nach der Flüchtigkeit und Konstitution des Esters verschieden hoch. Bei leicht flüchtigen Estern werden ohne Spaltung Werte gefunden, die ein Mehrfaches des Esteralkohols bilden, da je nach der Konstitution des Esters für den Säurerest verschieden große Mengen Sauerstoff zur Oxydation verbraucht werden. Dabei habe ich aber nicht berechnet, wie weit und zu welchen Endprodukten diese Ester oxydiert werden, weil diese von Fall zu Fall erst einmal chemisch-analytisch ermittelt werden müßten. Bei der Spaltung mit Natronlauge waren, da der Säurerest als Natriumsalz nicht flüchtig werden konnte, dem Esteralkohol entsprechende Werte zu erwarten, die dann auch unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen gefunden wurden. Bei der Spaltung mit Schwefelsäure wurde mitunter auch der organische Säurerest oder zuerst ein Teil des Esters flüchtig, da die Spaltung der Ester mit Schwefelsäure erheblich langsamer als mit

Alkali verläuft. Die Schwefelsäurespaltung ergab meist einen den wirklichen Esteralkoholwert übersteigenden Sauerstoffverbrauch.

Hier sei nochmals an die azeotropischen Gemische erinnert, bei denen Substanzen in einem bestimmten Verhältnis mit Wasserstoff schon bei niedriger Temperatur flüchtig werden, die sonst zur Destillation bei weitem höhere Temperaturen benötigen. Weiterhin ist diese Säurespaltung ein Beweis, worauf auch Hinsberg (15) in seiner kritischen Betrachtung zur Blutalkoholmethode hinwies, für die Wichtigkeit der Reaktion des Blutes, wenn man den Blutalkohol nach Widmark bestimmt, da das Blut infolge der durch Glykolyse auftretenden Milchsäure schwach sauer werden kann. In diesem Falle werden, wie auch aus meinen Versuchen am alkoholfreien Blut hervorgeht, große Substanzmengen flüchtig, die den Blutalkoholwert erheblich fälschen können. Beim Ansäuern des Nüchternblutes mit Schwefelsäure wurden als Alkohol, nach Widmark berechnet, bis zu 0,3—0,4 g/l gefunden. In Modellversuchen wurden die Ester, die wasserunlöslich sind, mit wässeriger Tragantlösung emulgiert. Obschon durch die Emulgierung die Fehlergrenze etwas größer werden mußte, so ließ sich doch aus den gefundenen Zahlen die Möglichkeit der Bestimmung der Ester im Blut einigermaßen gut beurteilen.

Ich untersuchte bisher 17 verschiedene Ester: Äthylester von Essigsäure, Glykokoll, Cyanessigsäure, Milchsäure, Brenztraubensäure, Acetessigsäure, Buttersäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure und Citronensäure, ferner an Estern anderer Alkohole: Amylformiat, Propyl- und Amylacetat, Amylbutyrat und künstlicher Oenantäther (ein Gemisch verschiedener Ester)[1]. Bei der großen Zahl von Estern und Aromastoffen, die sich in Früchten und den aus ihnen hergestellten Produkten finden, sind diese Versuche nur ein kleiner Ausschnitt aus einer größeren und reizvollen Arbeit, da über diese Frage bisher keine Beobachtungen und auch kaum pharmakologische Untersuchungen vorliegen.

Um auf die Beziehungen zwischen Konstitution und Verhalten im Organismus hinzuweisen, sind die Äthylester nach der Konstitution der ihnen zugrunde liegenden organischen Säuren angeordnet. Im Vorwort zu jedem Abschnitt sei kurz das wesentliche dieser Säuren in bezug auf ihre Konstitution und Eigenschaften hervorgerufen.

A. Ester des Äthylalkohols.

1. Einbasische fette Säuren, $C_nH_{2n}O_2$.

Essigsäureäthylester[2].

Mol 88,06, Sdp. 77°, Dichte 0,901.

Blindversuch: 4,40 g = 2,3 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
2,00	2,10	1,66 g/l gef.

Kaninchen: 2,55 kg Gew. $^2/_{100}$ Mol = 1,76 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,10	0,19	0,37
1 Stunde	0,70	0,83	0,96
2 Stunden . . .	0,50	0,64	0,96
3 „ . . .	0,35	0,42	0,61

[1] Ein Teil dieser Ester wurde mir freundlicherweise von der Firma Schimmel u. Co., Leipzig, zur Verfügung gestellt. [2] In allen Fällen bedeutet die Rubrik „Ohne", daß die flüchtige Substanz nach Widmark Ohne die Behandlung des Blutes mit NaOH oder H_2SO_4 bestimmt und als Alkohol berechnet wurde, während die Rubriken „NaOH" und „H_2SO_4" die als Alkohol berechneten Analysenergebnisse angeben, die unter gleichzeitiger Behandlung des Blutes mit Natronlauge bzw. Schwefelsäure erhalten wurden.

In allen Reihen finden wir starke Vermehrung der mit Wasserdampf flüchtigen oxydablen Substanz. Aus dem Verhältnis der Werte der Reihe „Ohne" zu denen der „NaOH" läßt sich im Vergleich zum Blindversuch schließen, daß im Blut Essigester vorhanden ist.

Es mußte weiter von Interesse sein, wie sich die gleichzeitige Gabe von Insulin auf den Verlauf der Blutessigesterkurve auswirkt. Der Alkohol wird nach meinen Untersuchungen (19) bei vermehrter Insulinversorgung des Körpers um so leichter und rascher zerstört, je geringer, und um so schwerer dagegen, je höher der Blutzuckerspiegel ist. Da also bei einem niedrigen Blutzuckerspiegel eine größere Wirkung auf den Essigester zu erwarten war, wurde in diesem Versuch gleichzeitig mit Essigester Insulin, und zwar 2 Einheiten für 1 kg Körpergewicht, verabfolgt.

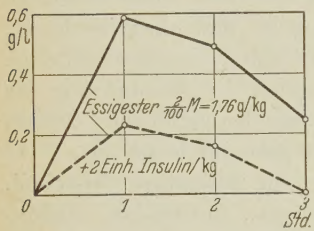

Abb. 3.

Kaninchen: 2,5 kg Gew. 2/100 Mol = 1,76 g/kg.

2 Einheiten Insulin/kg

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,23	0,32	0,68
1 Stunde	0,57	0,57	1,27
2 Stunden . . .	0,40	0,45	0,76
$4^1/_2$ „ . . .	0,22	0,31	0,67

In allen Reihen trat die erwartete kräftige Senkung der Blutessigesterkurve auch ein. Beobachtet wurde, wie die graphische Darstellung der Reihen „Ohne" zeigt, ein Wirkungsgrad von etwa 50%. Insulin greift nach diesen Versuchen nicht nur den Alkohol, sondern auch seine Ester an. Diese Essigester-Insulinversuche werden in einer anderen Arbeit noch ausführlicher behandelt werden, da die auffallende und besonders starke Wirkung des Insulins auf den Essigester, d. h. die Verbindung des Äthylalkohols mit seinem Oxydationsprodukt, der Essigsäure, von ganz besonderem physiologischen Interesse ist. Es scheint, daß die Zerstörung des Alkohols über seine Oxydation und gleichzeitige Veresterung mit seiner Carbonsäure unter Mithilfe des Insulins verläuft.

Am Essigsäureäthylester läßt sich am deutlichsten die Unzulänglichkeit der Alkoholbestimmung nach Widmark aufzeigen. Denn mit dieser Methode kann ich in meinen Blind- und Tierversuchen nicht unterscheiden, ob Essigester oder Alkohol mit der Oxydationsanalyse erfaßt wird. Auch eine dabei gleichzeitig verlaufende Spaltung mit Lauge oder Säure gibt keine Auskunft über die Natur der zur Oxydation kommenden Substanz, da bei diesem Ester der Säurerest, die Essigsäure, kein Oxydationsmittel verbraucht. Hier könnte nur eine sich daran anschließende Bestimmung der Essigsäure im titrierten Oxydationsgemisch Auskunft geben. Denn es muß, wenn Essigester oxydiert wird, genau die doppelte Menge Essigsäure auftreten, als wenn nur Alkohol die Sauerstoff verbrauchende Substanz ist. Gleichwohl möchte ich annehmen, in Analogie zum Versuch mit Citronensäureester, daß die nach oraler Zufuhr von Essigester im Blute des Kaninchens auftretende oxydable Substanz Essigester ist, zumal in der Exspirationsluft des Tieres deutlich Essigestergeruch wahrnehmbar war. Inzwischen hat die analytische Untersuchung des Oxydationsgemisches auch diese Vermutung bestätigt. Essigester wird bekanntlich in der Medizin als Anregungsmittel benutzt. Klinisch ist die atmungsanregende Wirkung kleiner Mengen starken Weines lange bekannt; wieweit es sich dabei um eine Reflexwirkung von den Geschmacks-, Geruchs- und sensiblen Magennerven aus handelt oder um unmittelbare Anregung des Atemzentrums, ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen.

Glykokollesterhydrochlorid. Mol 156.

Aminoessigsäure, Glykokoll, bildet als Säure einen stark basischen Äthylester, der infolge der Aminogruppe ein Chlorhydrat gibt.

Kaninchen: 3,05 kg Gew. $^1/_{40}$ Mol = 3,9 g/kg = 1,15 g A/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,12	0,10	0,25
1 Stunde	0,12	0,25	0,33
2 Stunden . . .	0,27	0,26	0,33
$3^1/_2$ „ . . .	0,12	0,23	0,33

Tier starb in der Nacht. Am nächsten Tage war der Befund im Herzblut:

	0,07	0,20	0,48

In allen Reihen findet sich eine geringe Erhöhung der mit Wasserdampf oxydablen Substanz. Glykokollesterhydrochlorid ist toxisch.

Cyanessigsäureäthylester. Mol 113, Sdp. 206°.

Cyanessigsäurechlorid kondensiert sich spontan, wie G. Schroeter (30) zeigte, zu Chlornoricinin. Er wies darauf hin, daß die synthetische Bindung des Ricinins in der Pflanze sich ähnlich abspielen könnte, da Glyoxylsäure und Blausäure in jungen Pflanzen sehr häufig anzutreffen sind und sich leicht zum Cyanhydrin oder Oxycyanessigsäure vereinigen. Weiterhin könne infolge der im Organismus besonders häufigen Disproportionierungen aus 2 Mol Oxycyanessigsäure Cyanessigsäure und Ketocyanessigsäure gebildet werden, von denen die letzte, wie Traube in vitro nachgewiesen hat, besonders geeignet zum Aufbau der Purinkörper ist. Die Cyanessigsäure läßt sich zur Malonsäure verseifen. Der Cyanessigester, den mir freundlicherweise mein verehrter Lehrer, Herr Professor Georg Schroeter (Berlin) zur Verfügung stellte, wird präparativ häufig benutzt, da — als Malonsäurehalbnitril — die Methylengruppe eine ähnliche Reaktionsfähigkeit besitzt wie in der Malonsäure selbst.

Blindversuch: 2,66 g/l = 1,06 g Alkohol/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
2,77	1,29	1,85 g/l gef.

Kaninchen: 3,30 kg $^3/_{100}$ Mol = 3,39 g = 1,38 g Alkohol/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,00	0,23	—
1 Stunde	0,73	0,62	—
2 Stunden . . .	0,92	1,28	—
$3^1/_2$ „ . . .	1,07	1,11	1,20 (Herzblut)

Tier starb nach $3^1/_2$ Stunden.

Cyanessigsäureester wurde im Blut nachgewiesen, er ist wider Erwarten toxisch.

n-Buttersäureäthylester. Mol 116, Sdp. 121°, Dichte 0,88.

Die Buttersäure verdankt ihren Namen der Butter, in der sie sich als Glycerinester findet; als Hexyl- und Octylester liegt sie in pflanzlichen und tierischen Ölen vor. Im freien Zustand ist sie im Muskelsaft, Schweiß und Faeces der Tiere nachgewiesen. Außerdem wird sie durch verschiedene bakterielle Gärungen aus Stärke, Zucker, Glycerin und milchsauren Salzen gebildet. Die Buttersäureester finden wegen ihres fruchtartigen Geruches in der Parfümerie mannigfache Anwendung, z. B. Ananasäther.

Blindversuch: 3,87 g = 1,54 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
4,60	2,53	3,24 g/l

Kaninchen: 2,52 kg $^1/_{100}$ Mol = 1,16 g/kg = 0,46 g A/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,02	0,12	0,32
1 Stunde	0,11	0,20	0,59
2 Stunden . . .	0,12	0,19	0,43
$4^1/_2$ „ . . .	0,11	0,18	0,43

In allen Versuchen findet sich eine geringe Erhöhung der flüchtigen oxydablen Substanz. Im Vergleich zum Blindversuch muß man annehmen, daß der Ester im Blut vorliegt.

2. Zweibasische Säuren.

Malonsäureäthylester. Mol 160,1, Sdp. 199°.

Malonsäureäthylester, eine schwach aromatisch riechende Flüssigkeit, hat bemerkenswerte Ähnlichkeit mit dem Acetessigester; hier wie dort kann Wasserstoff durch Natrium ersetzt werden. Die Malonestersynthese ist eine wichtige Darstellungsmethode der höheren ein- und mehrbasischen Säuren.

Blindversuch: 2,0 g/l = 1,2 g Alkohol/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,98	1,36	1,64 g/l

I. Kaninchen: 3,22 kg Gewicht. $^1/_{200}$ Mol = 0,8 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,12	0,22	0,24
1 Stunde	0,28	0,45	0,45
2 Stunden . . .	0,26	0,32	0,46
$4^1/_2$ „ . . .	0,23	0,29	0,33

Benzylmalonsäureäthylester. Mol. 238.

II. Kaninchen: 3,0 kg Gewicht. $^1/_{200}$ Mol = 1,19 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,10	0,26	0,51
1 Stunde	0,11	0,23	0,67
2 Stunden . . .	0,28	0,35	0,54
4 „ . . .	0,11	0,21	0,28

Beide Ester geben eine Erhöhung des Nüchternblutalkohols in allen Reihen.

Fumarsäureäthylester. Mol 172.

Maleinsäure und Fumarsäure werden durch Erhitzen von Äpfelsäure erhalten. Diese Reaktion stellt eine einfache Wasserentziehung aus Äpfelsäure dar; andererseits können sowohl Malein- wie Fumarsäure durch Erhitzen mit Wasser im Rohr zu d,l-Äpfelsäure hydratisiert werden. Bei der Reduktion liefern beide Bernsteinsäure. Der Maleinsäure ist die cis-Konfiguration und der Fumarsäure die trans-Konfiguration zuzuweisen. Die Fumarsäure ist die beständigere, sie kommt vor in den Pflanzen und ist ein normales Produkt des tierischen Stoffwechsels. Fumarsäureester gibt mit naszierendem Wasserstoff Bernsteinsäureester.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 1,72 g/l = 0,92 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,86	1,01	1,64 g/l

Kaninchen: 2,25 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,72 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,09	0,37	0,59
1 Stunde	0,25	0,46	0,48
4 Stunden . . .	0,20	0,32	0,54

Im Blut tritt flüchtige oxydable Substanz auf, die auch durch Verseifen mit Natronlauge nachgewiesen werden konnte, aus dem Verhältnis der Reihen Ohne/NaOH kann mit Sicherheit auf Fumarsäureester geschlossen werden.

Bernsteinsäureäthylester. Mol 174.

Als Vertreter der Ester der gesättigten zweibasischen Säuren dienten Malonsäure und Bernsteinsäure.

Die Bernsteinsäure führt ihren Namen von ihrem Vorkommen im Bernstein; außerdem ist sie in vielen Pflanzen, in Braunkohlen und fossilen Hölzern nachgewiesen; sie bildet sich reichlich bei gewissen bakteriellen Zersetzungen von Äpfel- und Weinsäure und bei der Gärung von Eiweißkörpern.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 1,74 g/l = 0,92 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
0,75	0,97	0,91 g/l

Kaninchen: 3,20 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,74 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,07	0,17	0,56
1 Stunde	0,07	0,31	0,43
2 Stunden . . .	0,07	0,31	0,45
4 „ . . .	0,07	0,30	0,67

Nur bei der Verseifung des Blutes mit Alkali wird ein Anstieg der mit Wasserdampf flüchtigen oxydablen Substanz beobachtet. Im Vergleich mit dem Blindversuch muß man aus diesem Ergebnis schließen, daß kein Bernsteinsäureäthylester im Blut auftritt.

Äpfelsäureäthylester. Mol 190, Sdp. 253°.

Die Äpfelsäure, Oxybernsteinsäure, enthält ein asymmetrisches Kohlenstoffatom und ist dementsprechend in zwei aktiven und einer racemischen Form bekannt. Sie ist im Pflanzenreiche weit verbreitet, so in unreifen Äpfeln, Weintrauben, Vogelbeeren, Berberitze, Quitten, Crassulaceen usw. Die beiden aktiven Äpfelsäuren lassen sich nach der „Waldenschen Umkehrung“ über die entsprechenden Chlorbernsteinsäuren ineinander überführen.

Blindversuch: 3,17 g = 1,6 g Alkohol/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
3,15	1,74	3,13 g/l

I. Kaninchen: 2,25 kg Gewicht. $^1/_{200}$ Mol = 0,95 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,08	0,18	0,35
1 Stunde	0,12	0,37	0,45
2 Stunden . . .	0,17	0,29	0,62
$4^1/_2$ „ . . .	0,17	keine weitere Blutentnahme möglich	

II. Kaninchen: 2,2 kg Gewicht. $^1/_{200}$ Mol = 0,95 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,00	0,04	0,27
1 Stunde	—	—	—
2 Stunden . . .	0,10	0,28	0,59
$4^1/_2$ „ . . .	0,00	0,22	0,27

Tier blutete so schlecht, daß die erste Entnahme erst nach 2 Stunden möglich war.

Die Erhöhung der oxydablen Substanz in allen Reihen läßt im Vergleich zum Blindversuch nicht auf ein Vorliegen von Ester schließen. Die Abbauprodukte dürften anderer Natur sein.

3. Dreibasische Säuren.

Citronensäureäthylester. Mol 276, Sdp. 294°.

Die Citronensäure, eine dreibasische Oxycarbonsäure, gehört zu den verbreitetsten Pflanzensäuren. Im Citronensaft, wo sie sich sehr reichlich findet, wurde sie entdeckt, aber auch in vielen anderen Früchten, im Rübensaft und im Wein kommt sie vor.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 2,76 g/l = 1,38 g Alkohol/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
0,15	1,45	0,71 g/l gef.

Kaninchen: 2,57 kg Gewicht. $^2/_{100}$ Mol = 5,52 g Citronensäureester/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,05	0,07	0,36 ber. Alkohol g/l Blut
1 Stunde	0,18	1,13	0,45
2 Stunden . . .	0,07	1,44	0,92
$3^1/_2$ „ . . .	0,07	1,26	0,45

Tier starb in der folgenden Nacht.

In diesem Versuch läßt sich der Citronensäureester im Blut einwandfrei nachweisen. Der Ester wirkt aber auch toxisch. Der Vergleich aller Reihen mit dem Blindversuch zeigt, daß bei einer Gabe von $^2/_{100}$ Mol für 1 kg Körpergewicht der Citronensäureäthylester im Blut in einer Konzentration von etwa $^1/_{100}$ Mol auftritt.

4. Einbasische Ketoncarbonsäuren.

Ketoncarbonsäuren sind Verbindungen, welche gleichzeitig Säure- und Ketoneigenschaften haben, also außer der Fähigkeit, Salze, Ester usw. zu bilden, auch noch imstande sind, sich mit Natriumbisulfit zu vereinigen, durch nascierenden Wasserstoff reduziert zu werden zu sekundären Alkoholsäuren usf. Die wichtigsten Glieder dieser Klasse sind: Brenztraubensäure, Acetessigsäure und Lävulinsäure.

Brenztraubensäureäthylester. Mol 116.

Die Brenztraubensäure ist ein wichtiges Zwischenprodukt bei der alkoholischen Gärung des Zuckers und als erstes Oxydationsprodukt der Milchsäure aufzufassen, sie läßt sich auch durch Permanganatoxydation der Milchsäure darstellen. Brenztraubensäure, nicht nur die einfachste, sondern auch die wichtigste α-Ketoncarbonsäure, ist sehr zur Polymerisation geneigt; die den Ketonen eigene Kondensierbarkeit ist bei ihr in ausgeprägtem Maße vorhanden, dabei geht sie in Benzolderivate oder bei Gegenwart von Ammoniak in Pyridinderivate über. Bei der Hefegärung zerfällt sie durch die Carboxylase in Acetaldehyd und Kohlendioxyd, wobei ihre Bildung nach neuerer Ansicht aus Phosphoglycerinsäure erfolgen soll. Im Organismus (Leber) kann sie in die entsprechende Aminosäure, das Alanin, verwandelt werden.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 1,16 g/l = 0,46 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,28	0,55	1,21

Kaninchen: 3,15 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,16 g/kg = 0,46 g A/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,18	0,25	0,41
1 Stunde	0,18	0,19	0,54
2 Stunden . . .	0,18	0,23	0,38
$4^1/_2$ „ . . .	0,18	0,20	0,20

Es tritt keine Erhöhung der mit Wasserdampf flüchtigen oxydablen Substanz auf. Der Ester wird also schnell verändert, wie auch die theoretischen Überlegungen erwarten ließen.

Acetessigester. Mol 130, Sdp. 181°.

Die freien β-Ketocarbonsäuren sind sehr unbeständige Substanzen, da sie mit großer Leichtigkeit Kohlendioxyd abgeben und dabei in Ketone zerfallen. Viel beständiger erweisen sich ihre Salze, vor allem aber die Ester, die wegen ihrer hervorragenden Reaktionsfähigkeit zu den wichtigsten Substanzen der präparativen Chemie zählen. Unter ihnen kommt dem einfachsten β-Ketoncarbonsäureester, dem Acetessigsäureäthylester, meist einfach Acetessigester genannt, das meiste Interesse zu. Er bildet das Schulbeispiel einer tautomer reagierenden Substanz; der gewöhnliche Acetessigester ist ein allelotropes Gemenge, da er zu etwa 8% aus Enol und 92% Keton besteht. Er riecht angenehm obstartig und ist in Wasser wenig löslich.

Blindversuch: 4,23 ccm/l = 1,53 g A/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,22	1,53	1,44 g/l gef.

Kaninchen: 3,12 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,3 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,07	0,11	0,34
1 Stunde	0,17	0,35	0,67
2 Stunden . . .	—	—	—
3 „ . . .	—	—	—
$4^1/_2$ „ . . .	0,17	0,29	0,33

Die Vermehrung der mit Wasserdampf flüchtigen oxydablen Substanz in allen Reihen ist wider Erwarten sehr gering. Diese Substanz dürfte im Vergleich zum Blindversuch Acetessigester sein, der auch beim Diabetes mellitus auftreten und hier zur Fehlerquelle bei der Alkoholbestimmung werden kann.

d, l-Milchsäureäthylester.

Mol 118, Sdp. 155°, Dichte 1,031.

In der Natur wird nur die α-Oxypropionsäure oder Äthylenmilchsäure gebildet. Da sie ein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzt, tritt sie als Racemat und in 2 optisch aktiven Formen auf. d,l-Milchsäure und l-Milchsäure entstehen aus Glucose, Saccharose und Maltose durch den Bacillus Delbrücki; der Milchzucker dagegen wird durch andere Bakterien z. B. Bact. lactici in Milchsäure umgeformt. Die stereoisomeren Milchsäuren sind wichtigste Durchgangs- und Endprodukte des biologischen Kohlehydratabbaues. Sie bilden das wesentliche Merkmal der „Glycolyse", die neben und mit der alkoholischen Gärung zu den biochemischen Zentralfragen gehört.

Blindversuch: 2,95 g/l = 1,15 g Alkohol/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
3,86	1,49	1,75 g/l

I. Kaninchen: 2,5 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,18 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,03	0,11	0,30
1 Stunde	0,18	0,26	0,43
2 Stunden . . .	0,16	0,25	0,45
$4^1/_2$ „ . . .	0,08	0,10	0,10

II. Kaninchen: 2,45 Gewicht. 5,1 g/kg = 2 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,09	0,20	0,20
1 Stunde	0,69	0,72	—
4 Stunden . . .	0,77	0,69	0,88

Das Tier starb nach 4 Stunden, das Blut wurde aus dem Herzen entnommen.

In beiden Versuchen ließ sich der Ester im Blut in allen Reihen nachweisen.

B. Ester höherer Alkohole.

Ähnlich wie der Äthylalkohol wirken nach Führer (9) die ihm nahestehenden Glieder der homologen Reihe, jedoch so, daß im allgemeinen die narkotische Wirkungsstärke der homologen Alkohole mit der Zahl ihrer Kohlenstoffatome zunimmt. Die untersuchten Ester höherer Alkohole Propylacetat, Amylformiat, Amylacetat und Amylbutyrat, sowie ein Gemisch verschiedener Ester „künstlicher Oenantäther", sind Vertreter einer Gruppe, die als Lösungsmittel in der Industrie eine große Rolle spielen. Man denke z. B. nur an die Celluloselacke, die Spritzlackierereien u. a. m. Daher haben diese Versuche auch eine praktische Bedeutung, besonders, weil hier vielleicht nach der Widmark-Methode sog. Blutalkoholwerte gefunden werden, die irrtümlicherweise auf einen vorangegangenen Alkoholgenuß bezogen werden können. Bei der Verarbeitung derartiger Ester in der Industrie, wie z. B. in Spritzlackierereien und Parfümerien, könnte auch im Sinne von Gewerbekrankheiten eine derartige Esteranreicherung im Blut auftreten. Inzwischen hat Siegmund (34) solche Untersuchungen durchgeführt. Er hat bei Lackspritzern,

die mit den gebräuchlichen Lösungsmitteln arbeiten, nach Beendigung ihrer Tagesarbeit keine Erhöhung der reduzierenden Substanzen (richtiger gesagt: der mit Wasserdampf flüchtigen, oxydablen Substanzen) gefunden.

1. Propylester.

Propylacetat. Mol 116.

Es gibt zwei strukturisomere Propylalkohole, einen primären und einen sekundären (Isopropylalkohol). Der primäre findet sich im Nachlauf des Destillates der alkoholischen Gärung. Isopropylalkohol ist durch Reduktion von Aceton leicht zugänglich. Beide Alkohole sind giftiger und wirken stärker berauschend als Äthylalkohol. Zu Genußzwecken dürfen sie keine Verwendung finden.

Kaninchen: 2,3 kg Gewicht. $^{1,5}/_{100}$ Mol = 1,74 g/kg Propylacetat.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,06	0,20	0,29
1 Stunde	0,58	0,92	1,09
2 Stunden . . .	0,54	0,52	0,79
$4^1/_2$ „ . . .	0,08	0,25	0,45

Propylacetat tritt in erheblicher Menge im Blut auf, aber für längere Zeit als Amylacetat.

2. Amylester.

Alle 8 der Theorie nach möglichen Amylalkohole sind bekannt. Von diesen finden sich der optisch inaktive Gärungsamylalkohol regelmäßig in den bei der alkoholischen Gärung entstehenden Fuselölen, deren Hauptbestandteile sie bilden und wobei der inaktive überwiegt. Der inaktive stammt aus Leucin und der aktive aus Isoleucin. In sehr geringer Menge ist auch der normale, primäre Amylalkohol im Fuselöl nachgewiesen, er bildet sich sehr wahrscheinlich aus einer dritten Aminosäure, dem Norleucin. Der rohe Gärungsamylalkohol findet in der Technik mannigfache Verwendung, so zur Komposition von Riechstoffen, zur Synthese von Fruchtäthern, d. h. Estern mit ausgesprochenen, an das Aroma mancher Früchte erinnernden Gerüchen (Essigsäureamylester, Buttersäureamylester, Valeriansäureamylester); Amylacetat dient zur Herstellung von Nitrocelluloselacken (Zaponlack) und in der Medizin, infolge seiner die Blutgefäße erweiternden Wirkung, zur Behandlung von Asthma. Amylalkohol wirkt stärker berauschend und ist giftiger als Äthylalkohol.

3. Ameisensäureamylester = Amylformiat.

Mol 116,1, Sdp. 124°, Dichte 0,871.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 1,16 g/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,81	1,97	1,94

Die Spaltung mit NaOH kann keinen analytischen Unterschied bedingen, weil der Ameisensäurerest beim Versuch durch Chromsäure nicht weiter oxydiert wird, also keinen Sauerstoff verbraucht.

Kaninchen: 2,45 kg Gewicht. $^2/_{100}$ Mol = 2,32 g/kg Amylformiat.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,06	0,11	0,38
1 Stunde	0,41	0,58	0,90
2 Stunden . . .	0,45	0,57	
4 „ . . .	0,09	0,26	0,32

Befinden des Tieres verschlechtert sich nach dem Eingießen; Zustand nach 2 Stunden so, daß nur 2 Blutentnahmen möglich waren. Dabei starker Geruch nach Exspirationsluft nach Amylformiat. Nach 4 Stunden fühlt sich das Tier wieder wohl, kein Geruch nach Amylformiat in der Exspirationsluft.

Da in der Reihe „Ohne“ zur Spaltung mit NaOH und H_2SO_4 kein Unterschied der Ergebnisse entsprechend dem Blindversuch auftritt, und der starke Geruch der Exspirationsluft sich entsprechend der Abnahme der Blutwerte sich verringerte, ist das Übertreten des Esters ins Blut erwiesen.

4. Essigsäureamylester — Amylacetat.

Mol 130, Sdp. 148°, Dichte 0,8953.

Essigsäureamylester ist farblos und von angenehmem Geruch.

Blindversuch: $^1/_{100}$ Mol = 1,30 g/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
1,53	1,61	1,18

Da der Essigsäurerest nicht weiter oxydiert wird, kann durch Spaltung mit NaOH kein Unterschied in den analytischen Zahlen auftreten.

Kaninchen: 2,42 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,18 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,14	0,21	0,62
1 Stunde	0,25	0,33	0,71
2 Stunden . . .	0,14	0,21	0,14
4 „ . . .	0,10	0,10	0,10

Flüchtiges Auftreten von Amylacetat im Blut ist erwiesen.

5. Buttersäureamylester = Amylbutyrat.

Mol 165.

Kaninchen: 3,05 kg Gewicht. $^1/_{100}$ Mol = 1,65 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,10	0,23	0,37
1 Stunde	0,10	0,23	0,61
2 Stunden . . .	0,10	0,16	0,27
$4^1/_2$ „ . . .	0,10	0,10	0,10

Es tritt keine Vermehrung der mit Wasserdampf flüchtigen, oxydablen Substanz im Blut auf.

Oenanthäther, künstlicher.

Künstlicher Oenanthäther, dessen Zusammensetzung vom Hersteller nicht angegeben wurde, wird auch als Weinbeeröl bezeichnet und findet als Aromazusatz zahlreiche Verwendung. Es ist im allgemeinen ein Gemisch von Äthyl- und Amylestern der Buttersäure, Caprinsäure, Caprylsäure und Laurinsäure.

Blindversuch: 2,0 ccm/l.

Ohne	NaOH	H_2SO_4
3,21	3,10	3,50

Kaninchen: 3,05 kg Gewicht. 1,75 g/kg.

Zeit	Ohne	NaOH	H_2SO_4
Nüchtern	0,05	0,17	0,54
1 Stunde	0,05	0,20	0,38
2 Stunden . . .	0,05	0,17	0,34
$4^1/_2$ „ . . .	0,05	0,17	0,23

Es tritt keine Vermehrung der mit Wasserdampf flüchtigen oxydablen Substanz im Blut auf.

Zusammenfassung.

1. Im alkalisierten und angesäuerten Blut werden für den sog. physiologischen Blutalkohol mit der von Widmark angegebenen Methode erheblich höhere Werte gefunden. Daher ist die Reaktion des Blutes bei der forensischen Analyse außerordentlich wichtig.

2. Die Alkali- und Säurespaltung, die für Ester ein analytisches Kennzeichen ist, kann in Verbindung mit der Widmarkschen Oxydationsanalyse auch zum Nachweis und der Bestimmung der verfütterten Ester im Blut herangezogen werden.

3. Die untersuchten Ester sind bei oraler Zufuhr in größerer Menge toxisch; bei Gabe von $^1/_{100}$ Mol werden immer Wirkungen auf das vegetative Nervensystem beobachtet.

4. Die Verfütterung der Äthylester von Ameisensäure, Essigsäure, Glykokoll, Cyanessigsäure, Buttersäure, Malonsäure, Benzylmalonsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Citronensäure, Acetessigsäure und Milchsäure hatte einen mehr oder minder starken Anstieg der mit Wasserdampf flüchtigen, oxydablen Substanz im Blut der Kaninchen zur Folge; keinen Anstieg bewirkten die Äthylester von Bernsteinsäure und Brenztraubensäure.

5. Die orale Zufuhr von Propylacetat, Amylformiat und Amylacetat führte ebenfalls zu einer Erhöhung der mit Wasserdampf flüchtigen, oxydablen Substanz des Blutes; Amylbutyrat und künstlicher Oenanthäther gaben keine Erhöhung.

6. Die gleichzeitige Gabe von Insulin (2 Einheiten/Kilogramm) senkte die alimentäre Essigesterkurve im Blut um etwa 50%.

Literatur.

1. Aue, E., Der Alkohol im Blut unter verschiedenen Bedingungen. Jena 1938. — 2. Bernthsen, A., Lehrbuch der organischen Chemie. Braunschweig 1924. — 3. Bickel, A., Biologische Wirkungen des Alkohols auf den Stoffwechsel. Leipzig 1936. Ferner Med. Welt **1938**, Nr 39. — 4. Le Breton, La signification de l'Alcool Ethylique dans l'organisme. Lons-Le Saunier 1936. — 5. Clark, B. B., u. R. W. Morrissey, Amer. J. Physiol. **123**, 37 (1938). — 6. Elbel, Die wissenschaftlichen Grundlagen der Beurteilung von Blutalkoholbefunden. Leipzig 1937. — 7. Förster, A., Med. Klin. **1938 I**, 633—635. — 8. Friedemann u. Klaas, J. of biol. Chem. **115**, 47—61 (1936). — 9. Fühner, Z. Biol. **57**, 465 (1912). — 10. Gisselson, L., u. G. Lindgren, Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **81**, 279—289 (1938). — 11. Gutschmidt, J., Klin. Wschr. **1939 I**, 58—59. — 12. Halpern u. Landau, Z. exper. Path. u. Ther. **3**, 466 (1906). — 13. Handbuch für Lebensmittel **4**, **5** u. **7**. Berlin: Julius Springer 1938/1939. — 14. Hellwig, A., Med. Welt **13**, 1098—1099 (1939). — 15. Hinsberg, K., Chemik.-Ztg **62**, 145—147 (1938). — 16. Hinsberg, K., u. E. Beutel, Z. gerichtl. Med. **31**, 194—210 (1939). — 17. Junge, K., Z. gerichtl. Med. **29**, 1—10 (1937). — 18. Kanitz, H. R., Diss. Berlin 1930. — 19. Kanitz, H. R., Arch. f. exper. Path. **183**, 380—386 (1936). — 20. Karrer, P., Lehrbuch der organischen Chemie. Leipzig 1928. — 21. Karu. E., Z. gerichtl. Med. **29**, 347—352 (1938). — 22. Kionka, H., Die praktische Bedeutung der Messung des Alkoholgehaltes des menschlichen Blutes. H. 8. Jena 1938. — 23. Kohberg, Z. gerichtl. Med. **15**, 75 (1937). — 24. Kratz, B., Chemik.-Ztg **62**, 148 (1938). — 25. Leloir u. Muñoz, Biol. J. **32**, 299—307 (1938). — 26. Meyer-Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie. Berlin-Wien 1933. — 27. Möller u. Widmark, Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.). **80**, 324—327 (1938). — 28. Richter, R., Diss. Berlin 1937. — 29. Schlichting, H., Z. exper. Med. **97**, 60—64 (1935). — 30. Schroeter, G., u. Chr. Seidler, J. prakt. Chem. **105**, 165. — 31. Schückle, Wien. klin. Wschr. **1937**, 1150. — 32. Schwarz, Z. gerichtl. Med. **10**, 377 (1927). — 33. Schwarzacher, Z. gerichtl. Med. **21**, 302 (1936). — 34. Siegmund, J., Klin. Wschr. **1939 I**, 58—59 — Z. gerichtl. Med. **30**, 152—155 (1938). — 35. v. Szent-Györgyi, A., Studies on biological oxydation and some of its catalysts. Budapest Leipzig 1937. — 36. Voit u. Friedrich, Klin. Wschr. **1935 I**, 1792—1793. — 37. Widmark, M. P., Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Berlin-Wien 1932. — 38. Widmark, M. P., Problèmes de Biologie et de Medecine. Moskau 1935. — 39. Widmark, M. P., Biochem. Z. **265**, 237—240; **267**, 135 (1933); **270**, 306 (1934).

Lebenslauf.

Ich, *Helmut Richard Kanitz*, wurde am 11. Juni 1903 zu Berlin als Sohn des Bankbeamten Richard Kanitz und seiner Ehefrau Helene, geb. Herbst, geboren. Von Ostern 1909 bis 1912 besuchte ich das Privatlyzeum zu Berlin-Baumschulenweg und dann das Leibniz-Gymnasium in Berlin. Diese humanistische Anstalt verließ ich Michaelis 1922 mit dem Zeugnis der Reife. Nach fünf Semestern Studium Chemie und Stoffwirtschaft an der Technischen Hochschule zu Berlin-Charlottenburg bezog ich die Universität Berlin. Nach Ablegung der chemischen Verbandsexamina in den Jahren 1926/27 promovierte ich im S. S. 1930 vor der Philosophischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin mit einer Dissertation aus dem Gebiete der organischen Chemie. Meine chemische Ausbildung erhielt ich am Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin durch Herrn Prof. Dr. *G. Schroeter*.

Am gleichen Institut war ich als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter bis zum Oktober 1930 tätig unter gleichzeitiger bakteriologischer Ausbildung am Hygienischen Institut der gleichen Hochschule. Vom 1. November 1930 bis 31. Oktober 1931 war ich Assistent am Technisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Berlin-Charlottenburg bei Herrn Prof. Dr. *O. Gerngroß* mit einem Stipendium der Liebig-Gesellschaft zur Förderung des chemischen Unterrichts. Im Verlauf dieser Forschungsarbeiten arbeitete ich längere Zeit in der chemischen Abteilung des Preuß. Inst. für Infektionskrankheiten „Robert Koch" unter der Leitung von Herrn Geh. Rat Prof. Dr. *G. Lockemann*. Anschließend wurde ich planmäßiger Assistent der Experimentell-biologischen Abt. d. Pathologischen Inst. d. Universität Berlin bei Herrn Prof. Dr. *A. Bickel*. Nach Auflösung dieser Abteilung infolge Notverordnung wurde ich Assistent am Pathologischen Institut unter Herrn Prof. Dr. *R. Rößle* und nach Streichung der Mittel vom 1. Oktober 1932 bis 15. November 1933 Stipendiat der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft. Vom 1. Dezember 1933 bis 1. Juni 1934 war ich Assistent am Universitätsinstitut für experimentelle Zellforschung an der Charité Berlin, Leiter Frau Prof. Dr. *Rhoda Erdmann*. Anschließend wurde ich wieder Stipendiat der Notgemeinschaft und arbeitete bis zum 31. Mai 1936 im Laboratorium von Herrn Prof. Dr. *A. Bickel*. Währenddessen war ich vom April 1935 an als Praktikant in der Preuß. Landesanstalt für Lebensmittel-, Arzneimittel- und gerichtliche Chemie tätig.

Am 28. März 1936 bestand ich in Berlin die Staatsprüfung für Nahrungsmittelchemiker mit „Gut", am 1. April 1936 die ärztliche Vorprüfung und am 18. November 1938 die ärztliche Prüfung mit „Gut".

Vom 1. Juni 1936 bis 31. Juli 1937 war ich Assistent am Institut für gerichtliche und soziale Medizin an der Universität Berlin, Direktor Prof. Dr. *Müller-Heß*. Seit dem 1. April 1938 bin ich Assistent am Hygienischen Institut der Universität Berlin, Direktor Prof. Dr. *Zeiß*.

Am 19. August 1939 erhielt ich die Bestallung als Arzt.